

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 288—292, Mai 1970

Über die Glykoproteine, Plasmaproteine und Glykosaminoglykane in Normalurin

Von D. GRÄSSLIN¹⁾, H. WEICKER und D. BARWICH

S. J. Thannhauser Abteilung für Stoffwechseluntersuchungen (Leiter: Prof. Dr. H. Weicker) der Medizinischen Universitäts-poliklinik Heidelberg (Kommiss. Direktor: Prof. Dr. E. Kuhn)

(Eingegangen am 12. Dezember 1969)

Der Mittelwert für die physiologische Proteinurie liegt für Normalpersonen bei 170 mg/24 Stdn. mit einer Variationsbreite von 150 bis 310 mg/24 Stdn. Zwischen Männern und Frauen und auch innerhalb des untersuchten Altersbereichs von 20 bis 40 Jahren wurden keine unterschiedlichen Werte gefunden.

Das nach Druckfiltration, Dialyse und Lyophilisation gewonnene Substanzgemisch enthält etwa 40% Kohlenhydrate, davon etwa 10% N-Acetylneuraminsäure. Der undialysierbare Urinanteil besteht zu rund 10% aus Plasmaproteinen, zu 10% aus Glykosaminoglykanen und zu 10% aus anorganischen Bestandteilen. Die Kohlenhydratkomponenten wurden chromatographisch dargestellt und das molare Verhältnis der Neutralzucker sowie die prozentuale Verteilung ermittelt. Das Substanzgemisch wurde diskelektrophoretisch aufgetrennt, die Plasmaproteine mit Amidoschwarz und die Glykosaminoglykane mit Alcianblau dargestellt.

Glycoproteins, plasma proteins and glycosaminoglycans in normal urine

The average value for physiological proteinuria in normal persons is 170 mg/24 hr., with a range of variation of 150—310 mg/24 hr. All values fell within this range for the age group 20—40 years and for both sexes.

After pressure filtration, dialysis and lyophilisation, the resulting mixture contains about 40% carbohydrate, of which 10% is N-acetylneuraminic acid. The undialysable urine fraction consists of about 10% plasma proteins, 10% glycosaminoglycans and 10% inorganic material. The carbohydrate components were separated chromatographically and the molar proportions of neutral sugars and their percentage distribution were determined. The mixture was separated by disc electrophoresis, the plasma proteins stained with amido black and the glycosaminoglycans with alcian blue.

MÖRNER (1) wies bereits 1895 im Normalurin des Menschen Proteine nach. Wie wir heute wissen, bestehen der nicht dialysierbare und der nicht ultrafiltrierbare Anteil des Normalurins aus einem Gemisch von Glykoproteinen, Plasmaproteinen und sauren Mucopolysacchariden (Glykosaminoglykanen). Die Molekulargewichte dieses sehr heterogenen Substanzgemisches schwanken zwischen mehreren Tausend (2) und einigen Millionen (3). Die Angaben in der Literatur über die Eiweißkonzentrationen im Urin variieren noch erheblich (4).

Das sog. TAMM-HORSFALL-Mucoid (5), identisch mit der „Nubecula“, konnte bisher als einzige großmolekulare Eiweißfraktion in reiner Form aus Urin isoliert, in seiner Zusammensetzung und seinen physikochemischen Eigenschaften genauer charakterisiert werden (6, 7). Das Molekulargewicht dieses Glykoproteins beträgt $28 \cdot 10^6$; es kann in Untereinheiten bis herunter zum Molekulargewicht $1,7 \cdot 10^6$ dissoziieren, wie MAXFIELD und Mitarbeiter (8) zeigen konnten und ist dann identisch mit dem von DI FERRANTE und RICH (9) isolierten Glykoprotein.

HAMERMAN (10) und KING Jr. und Mitarbeiter (11) stellten später zuerst fest, daß der nichtdialysierbare Anteil des Normalurins zum größten Teil aus relativ niedermolekularen Glykoproteinen mit hohem Kohlenhydratgehalt besteht. Allerdings gelang es bis jetzt nicht, eines dieser Glykoproteine darzustellen.

¹⁾ Jetzige Anschrift: Universitäts-Frauenklinik, Hamburg, Hormonlabor.

Mit Hilfe der Immunelektrophorese hat man sich heute einen Überblick verschafft über das Plasmaproteinspektrum des Normalurins. Vor rund zehn Jahren wurden mit dieser Methode zuerst von GRANT (12), PATTE (13) und BISERTE (14) die Anwesenheit einzelner Serumproteine gesichert. In den letzten Jahren erschienen hierzu zahlreiche Arbeiten (15—19), so daß heute insgesamt 19 verschiedene serumidentische Proteine in Normalurin nachgewiesen werden konnten. Albumin repräsentiert mit etwa 70% den Hauptanteil an ausgeschiedenen Plasmaproteinen (20).

Die dritte Gruppe nichtdialysierbarer Substanzen umfaßt die Glykosaminoglykane, auf deren Ausscheidung schon sehr früh hingewiesen wurde (21—23); jedoch war die chemische Klassifizierung noch unzureichend. Dagegen gelang KERBY (24) 1954 die Isolierung von Glykosaminoglykanen aus Urin von Normalpersonen, deren Hauptkomponente Chondroitinsulfate waren. Nach zahlreichen weiteren Untersuchungen (25—32) ist inzwischen die Differenzierung in Einzelkomponenten weitgehend gelungen, wenn auch die quantitative Seite je nach Untersuchungsmethode noch größeren Schwankungen unterworfen ist. Es ist noch nichts bekannt über die Molekulargewichte der ausgeschiedenen Glykosaminoglykane und auch nicht darüber, ob sie kovalent gebundene Polypeptidanteile besitzen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der gesamte nichtdialysierbare Anteil des Normalurins von Männern und Frauen im Alter zwischen 20 und 40 Jahren quantitativ

erfaßt und durch Bestimmung der Neutralzucker, Aminosucker, Hexuronsäuren, des N-Gehaltes und der anorganischen Bestandteile charakterisiert. Außerdem wurden die in Glykoproteinen und Glykosaminoglykanen vorliegenden Neutralzucker nach saurer Hydrolyse chromatographisch dargestellt und das molare Verhältnis bestimmt.

Mit Hilfe der Polyacrylamidgel-Elektrophorese und aus den Analysendaten wurde versucht, Aufschluß zu erhalten über die Zusammensetzung des Substanzgemisches.

Material und Aufarbeitung

Achtzehn 24-Stdn.-Urine wurden von 15 klinisch gesunden Personen (5 Frauen, 10 Männer) im Alter von 20 bis 40 Jahren gesammelt. Als Schutz gegen bakterielles Wachstum wurde Natriumazid (10 mg/100 ml) in die Polyäthylenflaschen zugegeben. Die Proben wurden mit der Essigsäure-Kochprobe und dem Combistix-Test auf Anwesenheit von Protein und Glucose untersucht; alle Tests fielen negativ aus.

Nach 15 Min. Zentrifugation der gesamten festgelegten Urinmenge bei 3500 U./Min. wurden Sediment und Zelldetritus verworfen und der Überstand zur Abtrennung submikroskopischer Partikel druckfiltriert. Druckfiltrationsgerät Typ SM 1620 8 ml Fassungsvermögen (Fa. Sartorius Membranfilter, Göttingen, Deutschland). Als Membranfilter diente der Filtertyp SM 11007 (Material: Cellulosenitrat) mit mittlerem Porendurchmesser von 0,25 µm; Druck bis 8 atü.

Anschließend Dialyse in Visking-Schläuchen²⁾ (23/32), zuerst 48 Stdn. gegen einen kräftigen Strom fließenden Wassers, dann 24 Stdn. gegen 30 l dest. Wassers von 4°, das durch ein Rührwerk in Bewegung gehalten wurde.

Gefriertrocknung des Dialyserückstandes ergibt Substanz A. Nach Druckfiltration über Filter SM 11007, und Lyophilisation des Filtrates einer 1proz. wäbr. Lösung von A erhält man B. Zur Gewinnung von C wurde eine 500 mgproz. wäbr. Lösung (500 mg/100 ml) von B 72 Stdn. gegen 1 l dest. Wasser bei 4° dialysiert. Das Wasser wurde durch starkes Magnetrühren in Bewegung gehalten, das Dialysat mehrmals gewechselt. Gefriertrocknung von Schlauchinhalt ergibt Substanz C. Alle Substanzen wurden für die Analysen in vacuo bei 50° über P₄O₁₁ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Methoden

Diskontinuierliche Polyacrylamidgel-Elektrophorese nach MAURER (33), ausgeführt mit Disc-Elektrophoresegerät Fa. Shandon (London). Gelsystem Nr. I₃₄, pH 8,9, 7,5proz. bzw. 5proz. Gel. Elektrodenpuffer: Tris-Glycin, pH 8,3.

Anfärbung der Gelzylinder:

Amidoschwarz 10 B (1proz. Amidoschwarz in 7proz. wäbrig-methanolischer Essigsäure) für Proteine und Glykoproteine.

Alcianblau (2proz. Alcianblau in 2proz. Essigsäure (35)) für Glykosaminoglykane.

PAS-Färbung für Glykoproteine nach KAO (36).

Agar-Immunelektrophorese in der Modifikation nach SCHEIDEGGER (36a).

Dünnschichtchromatographie, Papierchromatographie und Bestimmung der Neutralzucker mit Triphenyl-tetrazoliumchlorid nach den von uns bereits mitgeteilten Verfahren (37).

Analysen und Bestimmungsmethoden

Gesamteuraminsäure nach SVENNERHOLM (38).

Enzymatisch bestimmbare *Neuraminsäure* nach WARREN (39).

Neutralzucker mit Anthron (40) — und Orcin-Methode (41).

²⁾ Die Dialysemembran hält globuläre Proteine zurück bis herunter zum Molekulargewicht von 12—15000.

Fucose nach DISCHE (42).

Hexuronsäuren mit Carbazol-Methode nach DISCHE (43), in der Modifikation nach GREGORY (44).

Aminosucker nach CESSI (45).

Proteingehalt nach KJELDAHL-Methode (46).

Anorganische Bestandteile nach Verglühen der Substanz bei 800°: flammenphotometrische Bestimmung von Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺.

Ergebnisse

Die Menge des in 24 Stdn. ausgeschiedenen nichtdialysierbaren Anteils in Normalurin (gewonnen über Druckfiltration, Dialyse und Gefriertrocknung) beträgt 150—200 mg. Nur bei zwei von insgesamt 15 untersuchten Normalpersonen liegt die Ausscheidungsrate mit 280 mg bzw. 310 mg oberhalb des gefundenen Bereichs. Die mittlere Ausscheidungsrate an Substanz A liegt bei 170 mg/24 Stdn., wobei unterschiedliche Urinmengen pro 24 Stdn. (zwischen 480 und 1800 ml) hierbei keine Rolle spielen.

Tabelle 1 zeigt die Analysenergebnisse der isolierten Substanzen A, B und C (siehe „Material und Aufarbeitung“) von 15 Normalpersonen beiderlei Geschlechts im Alter zwischen 20 und 40 Jahren.

Der mittlere Gesamtkohlenhydratgehalt des nichtdialysierbaren Urinanteils liegt für Substanz A bei 40,5%, steigt für den wäbr. Auszug von A (Substanz B) auf 44,8% an und erreicht nach nochmaliger Dialyse (Substanz C) einen Mittelwert von 51,4%. Die entsprechenden Zunahmen der einzelnen Kohlenhydratbestandteile von Substanz A über B nach C ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Es treten sowohl in den Analysenergebnissen als auch in der Menge des nichtdialysierbaren Anteils von Normalurin zwischen Männern und Frauen keine signifikanten Unterschiede auf. In bezug auf diese Werte bestand bei dem vorgelegten Untersuchungsgut auch keine Altersabhängigkeit.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie konnten die bereits bekannten Zucker (48) Galaktose, Mannose, Fucose und geringe Mengen an Xylose als Bestandteile der Glykoproteine und Glykosaminoglykane des Dialyserückstandes dargestellt werden (Abb. 1). Das Verhältnis der einzelnen Monosaccharide wurde für Substanz A nach papierchromatographischer Auftrennung mit der Triphenyltetrazolium-Methode (49) wie folgt ermittelt:

$$\text{Gal:Man:Fuc:Xyl} = 9:4:2,5:0,1.$$

Der Xylose-Gehalt steigt von A nach C leicht an.

Für die Aminosucker wurde papierchromatographisch nach Darstellung mit alkalischer Silbernitratlösung und densitometrischer Auswertung ein Verhältnis von Glucosamin:Galaktosamin = 2:1 gefunden.

Die Substanzgemische A und C wurden mit Hilfe der Polyacrylamidgelelektrophorese aufgetrennt (Abb. 2). Gelzylinder G 1 zeigt Normalserum, G 2 Substanz A, G 3 Substanz C, angefärbt mit Amidoschwarz 10 B. Von den sechs dargestellten Fraktionen der Substanz A konnte die stärkste Bande als Albumin, die elektrophoretisch schneller als Albumin wandernde Zone als

Tab. 1
Analysenergebnisse der nichtdialysierbaren Anteile in Normalurin
(in Prozent, bezogen auf mg Trockengewicht; Normalbereiche und Mittelwerte)

Substanz	N-Acetylneuraminsäure	Fucose	Hexosen (Anthron)	Hexosen (Orcin)	Hexosamin	Hexuronsäure	Protein	Anorg. Anteil	Menge Trocken-Gew.	Kohlenhydrate	Summe
A	7,7—11,3 10,2	1,6—3,2 2,5	14,0—17,4 15,5	13,2—17,9 15,7	9,5—13,9 11,6	1,7—3,5 3,0	35—44 39	7,7—11,8 9,6	150—310 170	40,5	89,1
B	8,7—12,8 11,1	2,2—3,3 2,9	15,0—21,8 16,6	14,6—19,2 16,5	12,5—15,1 13,8	2,4—3,8 3,3	36—45 41	8,3—11,9 10,5	65—95 % von A	44,8	96,3
C	10,9—13,0 11,8	2,7—3,4 3,1	19,5—23,7 21,4	17,2—21,5 20,0	12,8—15,9 15,0	2,4—3,8 3,2	37—46 40	4,3—8,8 6,0	85—95 % von B	51,4	97,4

Tab. 2
Literaturübersicht der Proteinausscheidung in Normalurin

Autor	Jahr	Methode	Bereich
MÖRNER (1)	1895	Dialyse, Trocknung	22—78 mg/l
RIGAS und Mitarbeiter (52)	1951	Berechnet über Elektrophorese	30—50 mg/24 Stdn.
BOYCE und Mitarbeiter (61)	1954	Dialyse, Ultrafiltration, Lyophilisation	87—97 mg/24 Stdn.
GRANT und Mitarbeiter (12)	1957	Filtration, N-Analyse	46—66 mg/24 Stdn.
BOYCE und Mitarbeiter (62)	1958	Ultrafiltration, Lyophilisation	505*) mg/24 Stdn.
KEUTEL und Mitarbeiter (63)	1959	Ultrafiltration, Trocknung	175*) mg/l
ANDERSON und Mitarbeiter (64)	1960	Ultrafiltration, Dialyse, Lyophilisation	200*) mg/l
BOURRILLON und Mitarbeiter (54)	1960	Dialyse, Lyophilisation	120—150**) mg/l
TIDSTRÖM (50)	1963	Kolorimetrie	16—54 mg/24 Stdn.
GRIEBLE und Mitarbeiter (20)	1965	Dialyse, Biuret-Methode	201*) mg/l
KEUTEL (65)	1965	Dialyse, Lyophilisation	474*) mg/24 Stdn.
JØRGENSEN und Mitarbeiter (66)	1967	Gelfiltration, Kolorimetrie	82—156 mg/24 Stdn.
HEMMINGSON und Mitarbeiter (53)	1967	Dialyse, Kolorimetrie	38—394 mg/24 Stdn.
HEMMINGSON und Mitarbeiter (53)	1967	Dialyse, Kolorimetrie	38—394 mg/24 Stdn.
HEMMINGSON und Mitarbeiter (53)	1967	Dialyse, N-Analyse	2—190 mg/24 Stdn.
GRÄSSLIN und Mitarbeiter	1969	Druckfiltration, Dialyse, Lyophilisation	150—310 mg/24 Stdn.

*) Mittelwert. **) Bei Kindern von 6—12 Jahren.

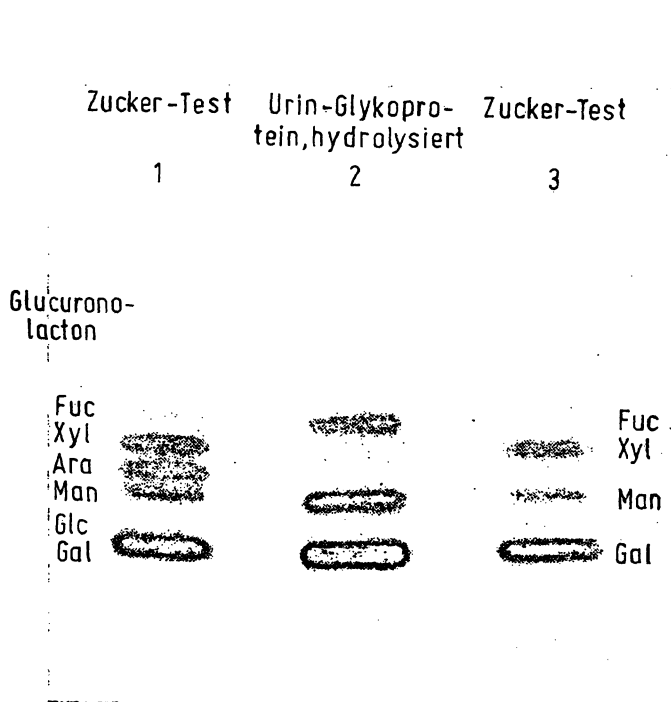


Abb. 1

Dünnschichtchromatographie von Neutralzuckern auf Cellulose-Platten
1 = Testlauf
2 = Substanz A aus Normalurin, Hydrolyse mit H₂SO₄
3 = Testlauf

α_1 -saures Serumglykoprotein, die langsam wandernde Fraktion durch Vergleich mit immunologisch reinen Referenzpräparaten (Behring-Werke, Marburg) als Transferrin identifiziert werden. Substanz C zeigt eine starke Abnahme von Albumin und eine Zunahme von α_1 -saurem Glykoprotein. G 4 wurde über die PAS-Reaktion angefärbt und zeigt lediglich 2—3 schwache Glykoproteinbanden. In den Gelzy-



Abb. 2

Disc-Elektrophorese, 7,5proz. Gel
1 = Normalserum, Amidoschwarzfärbung (AS)
2 = Substanz A, Normalurin, AS
3 = Substanz C, Normalurin, AS
4 = Substanz A, PAS-Färbung
5 = Substanz A, Alcianblau-Färbung
6 = Substanz A, Alcianblau-Färbung (5% Polymer-Gel)
7 = Chondroitinsulfat, Alcianblau-Färbung

lindern G 5 und G 6 konnte nach spezifischer Anfärbung mit Alcianblau ein Chondroitinsulfat-Gemisch durch Vergleich mit authentischen Material (G 7) identifiziert werden.

Die Glykosaminoglykane des Normalurins ließen sich in 5proz. Polyacrylamidgel (G 6) in zwei Fraktionen



Abb. 3

Immunoelektrophorese: nichtdialysierbarer Urinanteil gegen Antihumanserum

auftrennen. Für die anderen Elektrophoresen wurde 7,5proz. Mittelporgel benutzt. Abbildung 3 zeigt die Immunoelektrophorese der nichtdialysierbaren Urinfraktion (Substanz A) gegen polyvalentes Antihumanserum.

Diskussion

Wir bestimmten den Wert für die physiologische Proteinurie zu 150–310 mg/24 Stdn. Bei 85% der untersuchten Normalpersonen lag die Ausscheidungsrate im relativ engen Bereich von 150–200 mg/24 Stdn.

Tabelle 2 zeigt eine Literaturübersicht des nichtdialysierbaren bzw. nichtultrafiltrierbaren Anteils in Normalurin. Die Vergleichswerte der verschiedenen Autoren variieren erheblich und zweifellos sind diese Unterschiede auch von der angewandten Methode abhängig. Hierbei ist noch zu berücksichtigen, daß bei den niedrigen Werten meist mit den entsprechenden Methoden lediglich der Proteinanteil in Lösung bestimmt wurde.

TIDSTRÖM (50) und MCLAGAN (51) erhielten bei Männern höhere Ausscheidungsraten als bei Frauen. Wir konnten diesen Befund nicht bestätigen und fanden in Übereinstimmung mit RIGAS (52) und HEMMINGSON und Mitarbeitern (53) keine signifikanten Unterschiede in der Menge und den Analyseergebnissen hinsichtlich des Geschlechts. Auch das Alter der Personen (zwischen 20 und 40 Jahren) und die unterschiedlich großen Urin-Mengen/24 Stdn. spielen nach unseren Untersuchungen keine Rolle.

In Tabelle 1 sind die Analyseergebnisse für die Substanzen A, B und C mit den Bereichen und Mittelwerten zusammengestellt. Der Neuraminsäuregehalt mit 10,2% und der Gesamtkohlenhydratgehalt mit 40,5% für Ausgangssubstanz A steigen an über deren 1proz. wäbr. Auszug (Substanz B) mit 11,1% Neuraminsäure und 44,8% Gesamtkohlenhydrate bis zur 2mal dialysierten Substanz C: 11,8% Neuraminsäure und 51,4% Gesamtzuckergehalt.

Zu sehr ähnlichen Analyseergebnissen kamen 1960 BOURRILLON und KAPLAN (54) bei der Untersuchung des nichtdialysierbaren Anteils des Urins von Kindern im Alter von 6 bis 12 Jahren, mit 9,7% Neuraminsäure und 40% Kohlenhydratanteil.

Bei Substanz A wurde für Hexuronsäuren ein Mittelwert von 3,0% gefunden. Hierbei ist die Beeinflussung der Chromogenbildung durch Neutralzucker bei der Carbazol-Methode nach DISCHE (43) über einen Korrekturfaktor berücksichtigt worden. Der Anteil an Glucuron-

säure in Chondroitinsulfaten liegt wie bekannt bei 33%. Hiernach läßt sich bei Substanz A aus dem Hexuronsäuregehalt ein Chondroitinsulfatanteil von 10% berechnen. Mit Hilfe der Disk-Elektrophorese konnte dieser Wert bei quantitativen Auftrag und Anfärbung mit Alcianblau nach semi-quantitativen Konzentrationsvergleich mit reinem Chondroitinsulfat bestätigt werden.

Es ist bekannt, daß die Glycosaminoglycan-Protein-Komplexe Xylose enthalten und es ist daher zu diskutieren, ob die im nichtdialysierbaren Anteil von Normalurin von uns (55) und anderen Autoren (56 bis 58) beschriebene Xylose ausschließlich aus Mukopolysaccharid-Protein-Komplexen stammt.

Ebenso wie der Mukopolysaccharidanteil wurde von uns im Dialyserückstand des Urins auch der mittlere Gehalt an Albumin mit Hilfe der Disk-Elektrophorese bestimmt. Nach Anfärbung mit Amidoschwarz wurde durch optischen Konzentrationsvergleich ein Albuminwert um 10 mg/24 Stdn. ermittelt. Dieser Befund stimmt gut mit dem von POORTMANS und JEANLOZ (59) gefundenen Wert von 12 mg für die Albuminausscheidung in 24 Stdn. überein. Die Autoren hatten mit Hilfe der Radial-Immundiffusion die ausgeschiedenen Plasmaproteine für 12 verschiedene Spezies quantitativ bestimmt. Danach werden pro Tag insgesamt 17,5 mg Serumproteine im Urin ausgeschieden. Legt man diese Ausscheidungsrate unseren Untersuchungen zugrunde, so besteht der gesamte Dialyse-Rückstand des Normalurins im Mittel zu 10% aus Plasmaproteinen, wobei allein 7% auf Albumin entfallen. Der Anteil an anorganischen Bestandteilen im Dialyserückstand wurde gravimetrisch bestimmt und liegt im Mittel bei 9,6% (s. Tab. 1). Während in Normalurin die molaren Verhältnisse der Mittelwerte von $\text{Na}^+:\text{K}^+:\text{Ca}^{++}$ bei 26:10:2 liegen (60), ändert sich ihr Verhältnis im nichtdialysierbaren Anteil (Substanz A) zu 26:1:17, nach flammenphotometrischer Bestimmung.

Die nichtdialysierbaren Urinanteile setzen sich danach aus den in Abbildung 4 prozentual dargestellten Komponenten zusammen.

Wir danken Fräulein S. NEUBERT und Fräulein G. SOMMER für wertvolle Mitarbeit bei allen durchgeführten Untersuchungen.

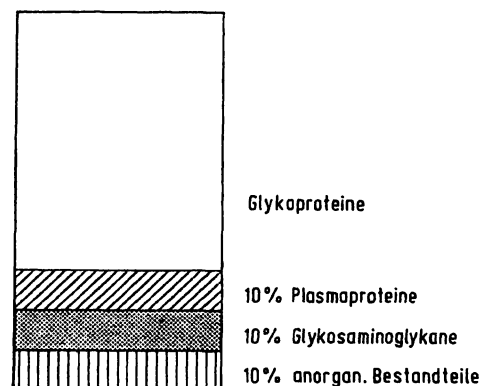


Abb. 4

Zusammensetzung des nichtdialysierbaren Anteils in Normalurin (Substanz A)

Literatur

1. MÖRNER, K. A. H., *Scand. Arch. Physiol.* 6, 332 (1895). —
2. BERGGÅRD, J., *Ark. Kemi* 18, 291 (1961). — 3. TAMM, J. und F. L. HORSFALL, JR., *J. Expol. Med.* 95, 71 (1952). — 4. HEMMINGSON, L. und F. SKOV, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 19, 81 (1918). —
5. TAMM, J. und F. L. HORSFALL, JR., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 74, 168 (1950). — 6. KING, J. S., M. L. FIELDEN, H. O. GOODMAN und W. H. BOYCE, *Arch. Biochem. Biophysics* 49, 310 (1961). —
7. MAXFIELD, M., *Biochem. biophysica Acta (Amsterdam)* 49, 548 (1961). — 8. MAXFIELD, M., *Arch. Biochem. Biophysics* 89, 281 (1960). — 9. DI FERRANTE, N. und C. RICH, *J. Laborat. Clin. Med. S. Louis* 48, 491 (1956). — 10. HAMERMAN, D., F. T. HATCH, A. REIFE und K. W. BARTZ, *J. Laborat. Clin. Med. S. Louis* 46, 848 (1955). — 11. KING, J. S., JR., W. H. BOYCE, J. M. LITTLE und C. ARTOM, *J. Clin. Invest.* 37, 315 (1958). — 12. GRANT, G. H. und P. H. EVERALL, *J. Clin. Path., London* 10, 360 (1957). — 13. PATTE, J. C., G. BALDASSAIRE und J. LORET, *Rev. franç. étud. clin. biol.* 111, 960 (1958). — 14. BISERTE, G., A. BRETON und R. HAVEZ, *Arch. franç. pédiatr.* 15, 5 (1959). — 15. GRANT, G. H., *J. Clin. Path., London* 12, 510 (1959). — 16. HEREMANS, M. T., J. P. VAERMAN und J. F. HEREMANS, in: PEETERS, H., editor, *Protides of Biol. Fluids, Proc. 7th Colloq., Bruges (1959)*, Elsevier Publ. Co. (1960). — 17. de VAUX-SAINT-CYR, C., und J. C. PATTE in GRABAR, P. und P. BURTIN, editors: *L'analyse Immunoelectrophoretique*, Masson et Cie., Paris (1960). — 18. BOURRILLON, R. und J. C. KAPLAN, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 5, 732 (1960). — 19. BERGGÅRD, I., *Nature (London)* 187, 776 (1960). — 20. GRIEBLE, H. G., J. COURCON und P. GRABAR, *J. Laborat. Clin. Med. S. Louis* 66, 216 (1965). — 21. ADDIS, T., *Harvey Lectures Ser.* 23, 222 (1927—28). — 22. KOBAYASI, T., *J. Biochem. Tokoy* 28, 31 (1938). —
23. ASTRUP, P., *Acta pharmacatox., K'hvn* 3, 165 (1947). — 24. KERBY, G. P., *J. Clin. Invest.* 33, 1168 (1954). — 25. DI FERRANTE, N. und C. RICH, *Clin. chim. Acta* 1, 519 (1956). — 26. DI FERRANTE, N., *J. Laborat. Clin. Med., S. Louis* 61, 633 (1963). — 27. HEREMANS, J. F., J. P. VAERMAN und M. T. HEREMANS *Nature (London)* 183, 1606 (1959). — 28. LOEWI, G., *Ann. Rheumat. Dis., London* 18, 239 (1959). — 29. TELLER, W. M., E. C. BURKE, J. W. ROSEVEAR und B. T. MCKENZIE, *J. Laborat. Clin. Med., S. Louis* 59, 95 (1962). — 30. BRUNISH, R. und B. SÖRENSEN, *Dermatologica* 130, 165 (1965). — 31. TELLER, W., *Msschr. Kinderheilk.* 112, 538 (1964). —
32. DELBRÜCK, A., H. GRIMME und K. WETTE, *diese Z.* 1, 10 (1967). — 33. MAURER, H. R., *Disk-Elektrophorese*, Walter de Gruyter & Co., Berlin (1968). — 34. DAVIS, B. J., Preprint „Disc Elektrophoresis“ Distillation Prod. Div. Eastman Kodak Co., Rochester (1962). — 35. CALDWELL, R. C. und W. PIGMAN, *Arch. Biochem. Biophysica* 110, 91 (1965). — 36. KAO, K. Y. T., J. G. LESLIE und T. H. MCGAVACK, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 122, 1129 (1966). — 36a. SCHEIDEGGER, J. J., *Internat. Arch. Allergy* 7, 103 (1955). — 37. GRÄSSLIN, D. und H. WEICKER, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 21, 15 (1968). — 38. SVENNERHOLM, L., *Biochim. biophysica Acta (Amsterdam)* 24, 604 (1957). — 39. WARREN, L., *J. biol. Chemistry* 234, 1971 (1959). — 40. YEMM, E. W. und A. J. WILLIS, *Biochem. J.* 57, 508 (1954). — 41. WINZLER, R. J. in D. GLICK: *Methods Biochem. Analysis* 2, 279 (1955). — 42. DISCHE, Z. und L. B. SHETTLES, *J. biol. Chemistry* 175, 595 (1948). — 43. DISCHE, Z., *J. biol. Chemistry* 167, 189 (1947). — 44. GREGORY, J. D., *Arch. Biochem. Biophysics* 89, 157 (1960). — 45. CESSI, C. und F. PILIEGO, *Biochem. J.* 77, 508 (1960). — 46. BRADSTREET, R. B., *Analytic. Chem.* 26, 185 (1954). — 47. SVENNERHOLM, L. *Acta Soc. Med. Upsal.* 61, 75 (1965). — 48. BERGGÅRD, I., *Ark. Kemi* 18, 315 (1961). — 49. WALLENFELS, K., E. BERNT und G. LIMBERG, *Angew. Chem.* 23, 581 (1953). — 50. TIDSTRØM, B., *Scand. J. Clin. Laborat. Invest.* 15, 167 (1963). — 51. ANDERSON, A. J. und N. F. MCLAGAN, *Biochem. J.* 59, 638 (1955). — 52. RIGAS, D. A. und C. G. HELLER, *J. Clin. Invest.* 30, 853 (1951). — 53. HEMMINGSON, L. und F. SKOV, *Clin. chim. Acta* 19, 81 (Amsterdam) (1968). — 54. BOURRILLON, R. und J. C. KAPLAN, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 5, 732 (1960). — 55. WEICKER, H. und D. GRÄSSLIN, *Nature (London)* 212, 715 (1966). — 56. GOTTSCHALK, A., *Nature (London)* 170, 662 (1952). — 57. MONTREUIL, J., *St. Jans Hosp., Brügger (Belg.), 3^e Colloq.*, (1955). — 58. TOMINAGA, F., K. OKA und H. YOSHIDA, *J. Biochem. Tokyo* 57, 717 (1965). — 59. POORTMANS, J. und R. W. JEANLOZ, *J. Clin. Invest.* 47, 386 (1968). — 60. Documenta GEIGY, *Wissenschaftl. Tab.*, 7. Auflage (1968). — 61. BOYCE, W. H., F. K. GARVEY und C. M. NORFLEET, *J. Clin. Invest.* 33, 1287 (1954). — 62. BOYCE, W. H., J. S. KING, JR., LITTLE und C. J. ARTOM, *J. Clin. Invest.* 37, 1658 (1968). — 63. KEUTEL, H. J., *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 11, 341 (1965). — 64. ANDERSON, A. J., M. H. LEPPER und R. J. WINZER, *Biochem. J.* 77, 581 (1960). — 65. KEUTEL, H. J., G. HERMANN und W. LICHT, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 4, 665 (1959). — 66. JØRGENSEN, M. B., *Acta med. Scand.* 181, 153 (1967).

Dr. D. Grässlin
2 Hamburg 20
Martinistr. 52
Universitäts-Frauenklinik

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE

(„Berichte der Gesellschaft für biologische Chemie“)

Unter Mitwirkung des
„CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE“
(National-Centrum für wissenschaftliche Forschung) veröffentlicht

R. PERLÈS
Hilfs-Generalsekretär

J. E. COURTOIS
Generalsekretär

Y. RAOUL
Hauptredakteur

Sekretariat und Redaktion
4, avenue de l'Observatoire, Paris (6°)

Herausgeber:
MASSON et CIE, 120, Boulevard Saint-Germain, Paris (6°)

Der „BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE“ veröffentlicht jährlich 11 Hefte; diese enthalten die Arbeiten der französischen Biochemiker, welche der „SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE“ (Gesellschaft für biologische Chemie) angehören.

Abonnementspreis 1969:
Frankreich und „Franc-Zone“ . . . 150 francs
Belgien 1684 belges
Andere Länder 165 francs

Aus unserem Elektrodenprogramm:

Mikro-Einstabmeßkette

G 64 B



Bestell-Nummer U 59



● Technische Daten:

- Einsatzbereich pH 0...14, 10...80 °C
- Membranwiderstand 400 MΩ bei 25 °C
- Länge ab Schliffunterkante 80 mm
- Anschlußstecker nach Wahl
- Lieferung über den Fachhandel oder ab Schnelldienstlager Mainz, Tel. 6061, FS 04187849
- Silberchlorid-Ableitung
- Platindiaphragma
- Schaftdurchmesser 5 mm
- Nullpunkt = pH 7,0
- Einbauschliff NS 7,5/16
- Kabellänge 1 m

SCHOTT

JENA^{ER} GLASWERK SCHOTT & GEN., MAINZ

Wir stellen aus: ANALYTICA 1970 · Halle 5 · Stand 5219

Einladung zur Subskription

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie

Nachdruck Band 1—282 (1877—1945) zuzüglich 8 Registerbände

Subskriptionspreis broschierte komplette Serie DM 15 600,—

Zur Komplettierung unvollständiger Serien werden nachstehend genannte Einzelbände zur Subskription gestellt. Subskriptionspreis broschiert je DM 70,—:

2	17	75	177	269
6	18	81	182	270
8	20	82	203	271
10	23	92	211	275
11	31	132	212	276
12	33	141	218	280
13	34	175	219	Reg. Bd.
15	69	176	235	226—250

Der Nachdruck kann erst vorgenommen werden, wenn eine ausreichende Anzahl von Subskriptionen vorliegt.

Alle hier nicht aufgeführten Bände der Serie sind noch in geringer Anzahl lieferbar. Der Ladenpreis für den broschierten Einzelband beträgt DM 85,—

Walter de Gruyter & Co · Berlin